

VU Research Portal

Multiplexing Biochemical Signals

de Ronde, W.H.

2012

document version

Publisher's PDF, also known as Version of record

[Link to publication in VU Research Portal](#)

citation for published version (APA)

de Ronde, W. H. (2012). *Multiplexing Biochemical Signals*. [, Vrije Universiteit Amsterdam].

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal ?

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

E-mail address:

vuresearchportal.ub@vu.nl

SAMENVATTING

Ieder levend wezen moet reageren op veranderingen in zijn omgeving — sterker nog, de mogelijkheid om dit te kunnen doen zou een definieerbare eigenschap van leven kunnen worden genoemd. Om überhaupt te kunnen reageren op veranderingen in de omgeving, moet allereerst de omgeving worden waargenomen, om zo een eventuele verandering op te merken. Mensen hebben voor deze taak zintuigen ontwikkeld, *zien, horen, voelen, ruiken en proeven*, die het mogelijk maken om actief, maar misschien wel vaker onbewust, de omgeving waar te nemen en veranderingen op te merken. Maar niet alleen mensen moeten hun omgeving waar nemen, ook eenvoudigere levensvormen, inclusief de ééncelligen, zoals bacteriën, moeten dit doen. Ook ééncellige organismen hebben, via evolutionaire processen, het gereedschap ontwikkeld dat nodig is om de eigenschappen van de omgeving te meten.

Echter, alleen het actief waarnemen van de omgeving is onvoldoende. Naast de waarneming, moeten cellen de verkregen informatie over de omgeving ook verwerken, wat (vaak) tot een gedragsverandering leidt. Als bijvoorbeeld de bacterie *E. coli*, in beginsel omringd door de suiker glucose, opmerkt dat de glucose suikers worden vervangen door lactose suikers, dan moet de bacterie "actie" ondernemen om in leven te blijven. Een mogelijkheid is een aanpassing van het interne metabole circuit door de expressie van nieuwe, andere enzymen, zodat in plaats van glucose, nu lactose de energiebron wordt, en een andere mogelijkheid is om zich te verplaatsen naar regio's met een hogere concentratie aan glucose suikers. Belangrijk is dat in beide scenario's een verandering van de omgeving tot een actieve respons van de bacterie leidt.

In deze context is de veranderende omgeving het signaal, en de gedragsverandering, de respons. In cellen zijn signaal en respons verbonden door netwerken van verschillende eiwitten, die onderling reageren, bijvoorbeeld door phosphorylatie of dimerisatie. Een netwerk van zulke eiwitten wordt een signaalcascade genoemd, en signaalcascades zijn een belangrijk onderwerp van dit proefschrift. Cellen hebben veel verschillende signaalcascades, omdat er veel verschillende signalen zijn en omdat één signaal tot verschillende responsen kan leiden. Ik durf te stellen dat de betrouwbaarheid van een signaalcascade het belangrijkste criterium is om goed te functioneren, maar andere criteria, zoals transmissiesnelheid of signaalintegratie, kunnen ook een rol spelen. De betrouwbaarheid van een cascade hangt van twee factoren af, enerzijds de versterking van het signaal, de zogenaamde gain, en anderzijds de intrinsieke ruis, die inherent aanwezig is in elke biochemische cascade. De betrouwbaarheid kan zeer goed gekwantificeerd worden met behulp van informatietheorie; immers een belangrijke resultaat binnen de informatietheorie is de gedeelde informatie tussen signaal en respons. Uit de informatietheorie blijkt inderdaad dat de betrouwbaarheid van een signaalcascade afhangt van de verhouding van de gain en de ruis. In dit proefschrift worden deze factoren, de gain, de ruis en gedeelde informatie, in meer detail bestudeerd, voornamelijk in de *Hoofdstukken 2, 3, 4 en 6*.

Het vergroten van de betrouwbaarheid is in principe een kostbare zaak. Energie is nodig om bijvoorbeeld extra eiwitten te maken voor een grotere versterking, of voor een grote aantal phosphorylatie stappen. Echter, energie is een schaars goed, en een hoge betrouwbaarheid moet daarom worden verkregen met minimaal energiegebruik. In andere woorden, een hoge betrouwbaarheid voor een lage kostprijs. Een mogelijkheid voor het reduceren van de kosten, is het hergebruiken van eenzelfde eiwit binnen verschillende cascades, een proces dat multiplexen wordt genoemd. In de *Hoofdstukken 5, 7 en*

8 wordt hier in detail naar gekeken.

Betrouwbaarheid van signaalcascades

In de *Hoofdstukken 2 en 3* bestudeer ik de betrouwbaarheid van signaalcascades for signalen die tijdsafhankelijk zijn. Recente studies hebben aangetoond dat bepaalde kleine netwerkstructuren oververtegenwoordigd zijn binnen grotere signaalcascades, zogenaamde netwerkmotieven, en voor deze kleine motieven bestudeer ik de betrouwbaarheid met behulp van de gedeelde informatie tussen het signaal en de respons. Omdat de signalen tijdsafhankelijk zijn, vervangen we de gedeelde informatie, door de zogenaamde gedeelde informatiesnelheid, die frequentie afhankelijk is. Verder is deze gerelateerd aan de verhouding van de gain en de ruis, maar nu zijn zowel de gain als de ruis ook frequentie afhankelijk. Door tegelijkertijd de gain en de ruis van een motief te bestuderen, blijkt dat voor een motief met positieve autoregulatie of positieve terugkoppeling, de informatieoverdracht van langzaam variërende signalen wordt vergroot. Echter, voor motieven met negatieve terugkoppeling wordt de informatie overdracht voor snel variërende signalen vergroot, maar alleen als de terugkoppeling zich “boven” (dichter bij het signaal) de uiteindelijke respons bevindt. In dat geval kan negatieve terugkoppeling zelfs leiden tot een maximum in de gain-ruis verhouding als functie van de signaalfrequentie.

In cascades met een feed-forward motief (coherent, incoherent of diamant) wordt de gain-ruis verhouding vergroot als het initiële signaal wordt gesplitst in twee gescheiden tussenliggende componenten of signaalpaden, die bij de uiteindelijke respons weer samenkomen. Echter, dit effect, de verhoogde gain-ruis verhouding, wordt alleen waar genomen bij zogenaamde gelijktijdige detectie, wat betekent dat voor activatie van de respons beide tussenliggende componenten/signaalpaden tegelijkertijd aanwezig moeten zijn. Bij zowel het homo- als heterodimerisatie proces van eiwitten is gelijktijdige detectie bijvoorbeeld aanwezig. Daarnaast laten we in dit hoofdstuk ook zien dat in een feed-forward motief de gain-ruis verhouding als een functie van de frequentie, zowel een karakteristieke hoog-band als een laag-band vorm kan hebben. Verrassend genoeg hangt dit niet af van het type feed-forward motief, want zowel het coherente als het incoherent motief kan beide karakteristieke vormen hebben. Door het actief reguleren van de koppeling tussen de respons en de signaalpaden is het mogelijk om de gain-ruis verhouding van een hoogband naar een laagband karakteristiek en vice versa te veranderen.

Ruis door diffusie

Het natuurlijke startpunt van vele signaalcascades is een receptor, al is dit niet altijd het geval. Het doel van een receptor is het registreren van de concentratie van een bepaalde ligand. Dit is niet zo eenvoudig, omdat het ligand diffundeert in het medium dat de receptor omgeeft en stochastisch bindt en ontbindt aan de receptor. Meer dan 35 jaar geleden hebben Berg en Purcell een antwoord geformuleerd op de vraag wat de minimale onzekerheid in de ligandconcentratie is wanneer deze door één receptor over een langere tijd wordt gemeten. Dit resultaat, de minimale onzekerheid, is echter in latere jaren betwist en is daarom een open vraag. In *Hoofdstuk 4* bevestigen wij de resultaten van Berg en Purcell, door middel van een nieuwe analytische theorie en computer simulaties, en daarmee herstellen wij de fundamentele Berg-Purcell limiet weer in ere. Deze limiet bestaat uit twee termen; de eerste term komt van de stochastische dynamica van het bind- en ontbindproces, de tweede term van het diffuse gedrag van de ligandmoleculen. Een belangrijk kenmerk van de limiet is de afhankelijkheid van de onzekerheid van de relatieve bezettingsgraad van de receptor. Deze afhankelijkheid reflecteert dat een receptor die relatief vaak gebonden is, relatief weinig “nieuwe” moleculen kan waarnemen en daardoor een hogere onzekerheid in de concentratie meting geeft. Daarnaast geven wij in dit hoofdstuk nog een eenvoudig model dat zeer goed de correlatietijd, en daarmee de onzekerheid in de

concentratie verklaart, en het parametergebied waarbinnen dit eenvoudige model geldig is.

Signaalintegratie

Nu we toch de receptor aan een kritische blik onderwerpen, bekijken we in *Hoofdstuk 5* naar signaalintegratie door receptoren. Recente experimenten hebben laten zien dat receptoren, of, meer in het algemeen, eiwitten, logische functies kunnen uitvoeren. Dit wil zeggen dat de uiteindelijke respons afhankelijk is van de geïntegreerde informatie van twee signalen. Wij waren benieuwd hoe flexibel dit mechanisme is. Met een simpel model uit de statistische mechanica kunnen we aantonen dat receptoren inderdaad als elke mogelijk logische poort kunnen werken, door het actief reguleren van kinetische parameters. Op evolutionaire tijdschalen is dit een mechanisme waarbij cellen receptoren kunnen creëren die als elke logische poort zijn te gebruiken. Echter, en misschien nog interessanter, we laten ook zien dat op veel kortere tijdschalen cellen alle logische poorten kunnen verkrijgen door het combineren van een beperkte set receptoren in dimeren.

Oscillerende signalen

Steeds meer experimenten laten zien dat cellen gebruik maken van oscillerende signalen. In eerste instantie zou men verwachten dat een oscillerend signaal de variabiliteit van de respons vergroot in vergelijking met een niet-oscillerend signaal. De vergroting van de variabiliteit, en dus de ruis, maakt een signaalcascade minder betrouwbaar en daarom lijkt het toepassen van oscillerende signalen, vanuit het oogpunt van de betrouwbaarheid, onlogisch. Echter in *Hoofdstuk 6* laten we zien, tegen de intuïtie in, dat in een genregulatie netwerk oscillerende signalen niet noodzakelijkerwijs leiden tot een lagere variabiliteit in de respons. Dit effect is mogelijk omdat een genetische schakelaar, aangedreven door een oscillerend signaal, een meer periodiek tijdsgedrag vertoont, dan aangedreven door een constant signaal. Het gevolg hiervan is dat het oscillerende signaal een minder variabele respons genereert dan het constante signaal.

Multiplexen

Multiplexen, of de kunst van het tegelijkertijd doorsturen van meerdere signalen door een gedeeld signaalpad is het onderwerp van de laatste twee hoofdstukken van dit proefschrift. In *Hoofdstuk 7* wordt het probleem van het multiplexen van constante signalen bestudeerd. We laten zien dat twee signalen inderdaad kunnen worden geëncodeerd in een gedeeld signaalpad en vervolgens gedecodeerd in twee uitgangssignalen, zodanig dat elk uitgangssignaal alleen afhankelijk is van zijn eigen ingangssignaal, met een 100% betrouwbaarheid. Omdat de ingangssignalen constant zijn, noemen we deze vorm van multiplexen AM multiplexen.

In *Hoofdstuk 8* vergroten we de vraagstelling van hoofdstuk 7. In plaats van ons alleen te richten op constante signalen, richten we ons nu op de vraag of één constant en één oscillerende signaal kunnen worden gemultiplexed. Dit kan, als de respons van het oscillerende signaal alleen afhankelijk is van de kenmerken van het oscillerende signaal (zoals de periode of de oscillatie amplitude, maar niet de gemiddelde concentratie), terwijl de respons van het constante signaal alleen afhankelijk is van de concentratie. We laten zien dat het mogelijk is een netwerk te formeren dat aan deze voorwaarde voldoet. Zoals verwacht, is niet alleen de intrinsieke biochemische ruis een belangrijke bottle-neck voor informatietransmissie, maar ook de kruisbestuiving tussen de twee verschillende signaalpaden. Echter, met een oscillerend en een constant signaal kan de totale hoeveelheid informatie die door het netwerk wordt gestuurd, enorm vergroot worden ten opzichte van AM multiplexing.

